

El cuerpo glicogénico en neonatos del orden de los psittaciformes y su relación con la mortalidad neonatal

En el estudio se evaluó histopatológicamente el cuerpo glicogénico de los pichones de Psittaciformes muertos durante una temporada de cría. Se observaron severas hipotrofias en el 84% de los casos, algo nunca descrito anteriormente en la bibliografía, y se correlacionó con una posible deficiencia subclínica de biotina.

Palabras clave: Cuerpo glicogénico, neonatos, psitácidas, biotina.
Clin. Vet. Peq. Anim., 29 (2): 85-90, 2009

R. Domingo

Veterinario de Animales
Exóticos
EXOTVET BCN
Barcelona



Introducción

Durante la estación de cría del 2002 en Loro Parque (Tenerife), 99 pichones muertos de psitácidas fueron examinados histológicamente obteniéndose, en muchos de los casos, un diagnóstico de "deficiencia energética". En 39 de los pichones se pudo evaluar el CG, y resultó estar parcial o completamente vacío en todos ellos. Se sospechó una posible relación entre el estado del CG y el diagnóstico de "deficiencia energética" en pichones.

El CG es una estructura gelatinosa glial exclusiva de las aves, que yace en la médula espinal a nivel lumbosacro, en la *fossa rhomboidea spinalis*¹. Fue descrita por primera vez en 1811 por Emmert en aves adultas y un año después por Nicolai en embriones. Terni en 1924 demostró, mediante la tinción *Best Carmine's*, la presencia de glicógeno llenando la estructura. Posteriormente, Watterson en 1949 revalidó los hallazgos de Terni e introdujo el termino "cuerpo glicogénico". Previamente había recibido otros nombres como: saco linfático, prominencia lumbar, cuerpo fluido o glial, corpus gelatinosum, etc. La presencia de CG se ha descrito en más de 30 especies diferentes de aves, terrestres y acuáticas.

El CG en gallinas tiene una forma oval si se observa dorso-ventralmente², y de triángulo invertido en las secciones transversales, reduciendo la conexión entre el tejido nervioso a una pequeña porción ventral³ (ver Fig. 1). El canal central pasa a través del CG longitudinalmente^{4,5}, con las células endodiales en contacto directo con sus células. Esta mayormente compuesto por células astrogiales, especializadas en la reserva de grandes cantidades de glicógeno, que desplazan al núcleo y las organelas celulares a los límites de la célula^{2,6}. En cuanto a su localización meníngea se puede dividir en dos porciones, una dorsal que es intrapía, y una ventral subpía⁷. El CG está ricamente vascularizado, con las células astrogiales en contacto directo con la lámina basal de los vasos². La estructura está bien inervada por axones no mielinizadas⁸.

En embriones de gallina (*Gallus gallus*) y codorniz (*Coturnix japonica*), las primeras células del CG aparecen a los 7,5 – 7,75 días de incubación a partir del neuroepitelio, almacenando

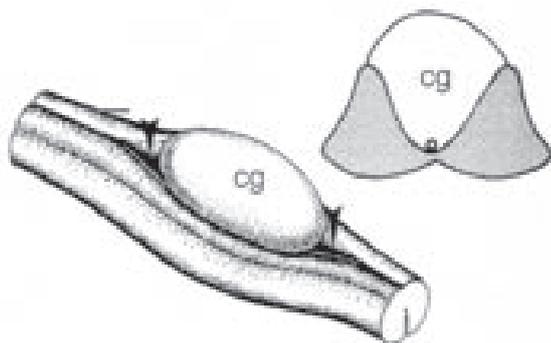


Figura 1. Imagen dorso-ventral y sección transversal del cuerpo glicogénico del pollito de gallina (*cg corpus gelatinosum*) (Möller W, Kummer W 2003 ©)

ya pequeñas cantidades de derivados glicogenados^{9,10}. El crecimiento del CG desde su aparición inicial, se produce hasta el día 15 de incubación por el aumento en el número de células⁹, y posteriormente el incremento de tamaño es debido al almacenaje de derivados glicogenados hasta después del nacimiento¹¹.

Las células astrogiales del CG contienen todos los enzimas necesarios para la síntesis y lisis del glicógeno¹², aunque carecen del enzima glucosa-6-fosfatasa (necesario para transportar la glucosa desde el interior hacia el exterior de la célula)¹³. También se ha demostrado la presencia de todos los enzimas necesarios para el ciclo de las pentosas fosfato, mayor vía productora de NADPH (forma reducida de la nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato) muy usada para la producción de ácidos grasos de cadena larga y colesterol, empleados en la síntesis de mielina¹³.

Se ha experimentado con hormonas involucradas en el metabolismo de los carbohidratos (insulina, glucagon, epinefrina, etc)¹⁴, neurotransmisores (adrenalina) y con situaciones de deficiencia energética (ayuno, migración)^{15,16}, para saber cuales son los factores que causan el almacenaje y liberación de derivados glicogenados en el CG, pero los resultados han sido siempre inciertos.

Se han postulado diversas hipótesis sobre su función, como reservorio energético para el sistema nervioso central o el líquido cefalorraquídeo^{3,4}, como productor de mielina¹³, como neurosecretor o incluso como remanente no funcional de los ancestros reptilianos¹⁷, aunque su función real sigue siendo desconocida.

La composición de los huevos es baja en carbohidratos, y el 80% de la glucosa es utilizada durante los primeros 6 días de incubación¹⁸. Cuando todas las reservas de carbohidratos han sido usadas para producir energía, el embrión debe empezar a utilizar los lípidos y las proteínas, con los que mediante la gluconeogénesis, obtiene la glucosa necesaria para su desarrollo y crecimiento¹⁸. El embrión obtiene lípidos por absorción vía hematogénea del saco vitelino, y proteínas digiriendo albumen cuando la organogénesis ha finalizado. La gluconeogénesis es dependiente de biotina, porque uno de sus enzimas, la piruvato carboxilasa, lo es¹⁹.

La biotina o vitamina H es una de las vitaminas menos biodisponibles, puesto que se encuentra frecuentemente ligada con gran afinidad a proteínas²⁰. El saco vitelino es la fuente principal de biotina en los embriones, ya que la biotina que se encuentra en el albumen está ligada covalentemente con gran afinidad a la avidina (proteína con propiedades antibacterianas)²⁰. Se ha confirmado una relación directa entre los niveles de biotina de la dieta de la hembra ponedora y la concentración de biotina en el saco vitelino²¹. Cuando las reservas de biotina en el saco vitelino son altas, estas aportan las cantidades necesarias al neonato para subsistir durante una semana si no hay un aporte externo en la dieta²⁰. Las deficiencias de biotina se han asociado en gallinas al síndrome de lipodosis hepática y renal. En embriones, una deficiencia de dicha vitamina causa muertes embrionarias durante el primer y último tercio de la incubación, así como deformaciones en el pico y esqueleto, condrodistrofias, ataxia, retrasos en el desarrollo del sistema inmune, etc^{20,22}.

En el momento del nacimiento, el embrión debe pasar de un medio acuático a un medio aéreo, y deben tener lugar muchas transformaciones fisiológicas e histológicas para que sea posible su adaptación. La maduración de tejidos y sistemas, y el uso óptimo de las reservas energéticas son algunas de las transformaciones que deben tenerse en cuenta en el momento de evaluar la histología y fisiología de embriones y neonatos.

Este es el primer estudio documentado y detallado del cuerpo glicogénico en psitacíformes. La investigación también pretende clarificar la posible relación del cuerpo glicogénico con el metabolismo energético de los embriones y neonatos de las psitácidas.

Material y métodos

Entre los meses de enero y octubre del 2003, se recogieron todos los neonatos fallecidos durante el primer mes de vida y embriones muertos durante el último período de incubación. Se incluyeron en la investigación todas las especies de Psittacíformes de las que uno o más neonatos/embriones murieron durante dicho período, indistintamente de su origen dentro de la colección (estación de cría, incubadoras o nido). Los casos que presentaban un grado elevado de autólisis fueron eliminados del estudio. Los pichones y embriones fueron examinados y necropsiados de forma estándar. Se tomaron muestras de todos los tejidos y se fijaron en formol tamponado al 10 %, para su posterior procesamiento histológico. La médula espinal se fijó completamente y dos días después se cortó entre la segunda vértebra lumbar y segunda vértebra sacra, y se conservó en un eppendorff con formalina tamponada al 10% hasta su procesamiento histológico.

Se recogieron muestras para microbiología de corazón e hígado, y también de otros órganos en caso de considerarse necesario. También se conservaron y procesaron muestras de tejidos para otras pruebas diagnósticas en caso de que se estimaran de importancia para el estudio. Para la investigación microbiológica se emplearon dos medios para el aislamiento

bacteriano (Columbia Agar 5% Sheep Blood bioMerieux®, MacConkey Agar bioMerieux®) y un medio selectivo para hongos (Albicans ID2 Agar bioMerieux®). Las placas fueron incubadas a 37,7°C y evaluadas a las 24 y 48 h.; los cultivos para hongos también se leyeron a las 72 h.

El procesamiento histológico se realizó en un laboratorio privado. Se utilizaron tres tinciones para la evaluación histopatológica: Turnbull's Blue (para la detección de hierro en el hígado y otros órganos), PAS (para la evaluación del estado de almacenaje de derivados glicogenados del CG y estudio de otros tejidos) y hematoxilina-eosina.

Se registraron los datos del animal, el peso, el cuadro clínico, las pruebas diagnósticas ante-mortem y los tratamientos realizados, para una completa evaluación junto con los hallazgos macro y microscópicos. Todos los pichones o embriones en los que el CG pudo evaluarse histológicamente fueron incluidos en la base de datos.

En base a la bibliografía disponible y por comparación de casos de especies cercanas a edades parecidas, se elaboró una tabla (ver Tabla 1) con los tiempos estimados de maduración de algunos tejidos y el uso del vitelo para la correcta evaluación histológica. Dicha tabla se dividió en 3 categorías según el tamaño adulto de la especie (pequeña, mediana y grande), puesto que las especies más pequeñas presentan un desarrollo más rápido que las de mayor tamaño.

Resultados

La base de datos contó finalmente con 110 casos de 51 especies distintas de Psittaciformes. Estaba compuesta mayoritariamente por embriones (30%) y neonatos hasta 5 días de edad (30,9%). El 43% de los animales presentaba un peso inferior al normal al que les correspondía según la edad.

El 61% de los animales provenían de la estación de crianza, el 10% del nido, y el resto de las incubadoras.

El cuadro clínico mayormente observado fueron muertes súbitas durante la primera semana de vida, y los que superaban este período mostraban retraso en el crecimiento con la piel pálida y seca, el cuerpo desproporcionado, la cabeza globoide (ver Fig. 2), infecciones recurrentes y retrasos en la apertura de los ojos y del tiempo de vaciado del buche.

El cuerpo glicogénico se localizó entre la tercera vértebra lumbar y la primera sacra en el interior de la columna vertebral. Su forma era ovalada y se describió yaciendo en la *fossa rhomboidea spinalis* en medio del tejido nervioso. En la sección transversal presentaba forma de triángulo invertido.



Figura 2. Guacamayos escarlata (*Ara macao*) a la edad de 15 días, mostrando signos aparentes de retraso en el crecimiento, cabeza globoide y piel seca.

	Tamaño adulto de la especie		
	Pequeña	Mediana	Grande
	Edad media estimada (días de vida)		
Saco vitelino completamente reabsorbido	5	7	8
Inicio del uso del vitelo	0	0	0
Desaparición de la lipidosis hepática fisiológica	8	10	10
Pulmón completamente desarrollado	8 a 14	14 a 21	28
Glomérulos maduros	28	28	28
Timo bien colonizado	3	5	7
Bursa cloacalis bien colonizada	5	7	9
Bazo bien colonizado	7	7	7
Médula ósea bien colonizada	-1	1	2
Cese de la eritropoyesis extramedular	7	9	9
Cese de la granulopoyesis extramedular en el bazo	1	2	2
Cese de la granulopoyesis extramedular en el riñón	7	9	9
Cese de la granulopoyesis extramedular en el hígado	7	9	9
Cese de la granulopoyesis extramedular en la <i>bursa cloacalis</i>	1	2	2
SNC maduro	20	20	20

Tabla 1. Edades normales estimadas de maduración de los órganos, cese de la hematopoyesis extramedular, uso y absorción del saco vitelino

Histológicamente estaba compuesto por un solo tipo de célula de forma poligonal con el núcleo y organelas desplazados en el extremo por una estructura que ocupaba la mayor parte de la célula y que tomaba una coloración rojiza con la tinción de PAS, asumiendo que se trataba de derivados glicogenados (ver Fig. 3). El canal central pasaba a través del CG en su porción más ventral, sin interposición de membranas entre las células del CG y las células ependimales. Se hizo evidente una rica vascularización de la estructura con las células astrogiales en contacto directo con la lámina basal de los vasos.

Solo el 16% de las aves presentaba un CG lleno de derivados glicogenados, mientras que el resto presentaban hipotrofias en distintos grados (ver Fig. 4). En los casos en los que se observaron carencias en el CG, el núcleo y las organelas continuaban apareciendo en el extremo de las células astrogiales, y el resto del espacio aparecía vacío o con pequeños restos de derivados glicogenados, con la tinción de PAS (ver Fig. 5).

En la Tabla 2 se encuentran resumidas otras de las lesiones histopatológicas más descritas habitualmente en los neonatos y embriones del estudio, y su porcentaje de aparición en la base de datos. Muchas de dichas lesiones muestran inmadurez de los tejidos y sistemas.

Discusión

En este estudio se pudo observar una base de datos formada mayoritariamente por embriones muertos en el último tercio de la incubación y neonatos durante los primeros 5 días de vida, denotando una elevada mortalidad durante estos periodos. Esta mayor mortalidad ha sido descrita previamente

Lesión histopatológica	Porcentaje (%)
Atiroidismo / Hipotiroidismo	86
Uso temprano del saco vitelino	33.6
Lipidosis hepática no fisiológica	19.6
Lipidosis hepática retardada	17.7
Edema en las vellosidades intestinales	14.5
Pulmón inmaduro	21.4
Tubulonefrosis	16.3
Degeneración del miocardio	21.0
Hematopoyesis extramedular retardada	21.8
Granulopoyesis extramedular retardada	12.7
Colonización pobre de la médula ósea	21.9
Colonización pobre del bazo	39.3
Colonización pobre de la <i>bursa cloacalis</i>	22.7
SNC anémico	18.5
SNC inmaduro	7.2
Infección bacteriana generalizada	19.1

Tabla 2. Lesiones histopatológicas más frecuentemente descritas en los neonatos/embriones del estudio

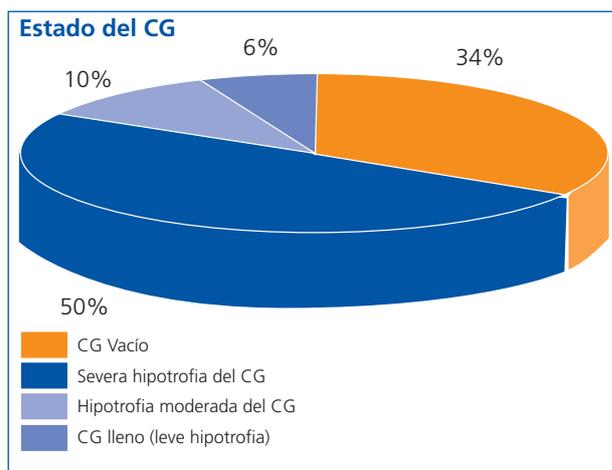


Figura 4. Estado de las reservas de derivados glicogenados dentro de las células astrogiales del CG de los neonatos/embriones del estudio

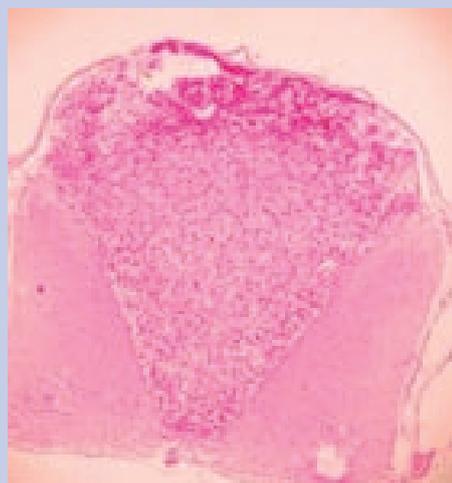


Figura 3. CG normal (Tinción PAS, 10x).

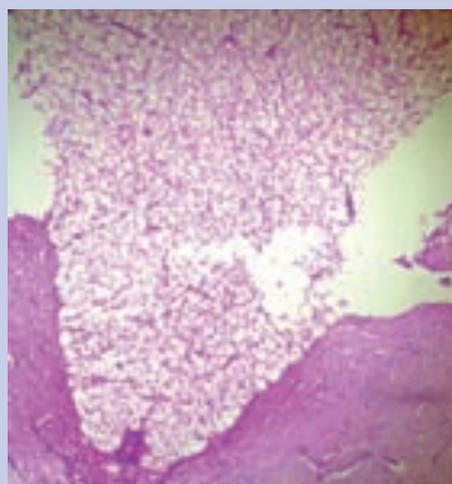


Figura 5. CG con severa hipotrofia (Tinción PAS, 20x).

por otros autores²³, y se ha asociado a que los neonatos/embriones son organismos más sensibles, con sistemas inmunitarios más débiles frente a agentes infecciosos.

Por lo que respecta al peso de los animales, un elevado porcentaje de los neonatos de la investigación estaban por debajo de su peso óptimo. Dicho hallazgo resulta lógico si consideramos que el estudio se realizó en animales muertos mayoritariamente bajo condiciones patológicas.

La representación de animales provenientes directamente del nido de los padres es baja en este estudio, porque los nidos no se podían revisar diariamente para no molestar las parejas reproductoras; y cuando se encontraban neonatos o huevos no eclosionados, la mayoría presentaban un grado elevado de autólisis. Los pichones provenientes de la estación de cría forman la mayor parte de la base de datos, ya que eran fácilmente controlables y accesibles.

El cuadro clínico descrito en esta investigación ha sido descrito previamente por otros autores, y se ha relacionado con manejos inadecuados, enfermedades subyacentes, técnicas de incubación inapropiadas y dietas pobres o desequilibradas²⁴.

La localización y descripción macroscópica del CG en este estudio coinciden con la mayor parte de la literatura consultada en otras especies²⁻⁵.

La descripción microscópica y vascularización descritas en este trabajo coinciden con la observada por Lyser en 1973. En esta investigación no se describieron invaciones en el CG, a diferencia de otros estudios, probablemente porque no se emplearon altas magnificaciones ni tinciones especiales para su visualización.

En esta investigación se observó que las reservas de derivados glicogenados en muchos de los CGs se encontraban vacías o hipotróficas, algo no descrito previamente en la literatura. La bibliografía disponible trabaja sobre todo con especies precoces (gallinas, codornices, patos) y solo una altricial (palomas)⁴. Se conoce que el desarrollo embrionario es el mismo para todas las especies de aves, y que la única diferencia reside en que las precoces, al final de la incubación, tienen fases de maduración de tejidos más largas que las altriciales²⁵. Teniendo en cuenta este requisito, junto con el hecho que los primordios contienen ya pequeñas cantidades de glicógeno desde su aparición los días 7,5 – 7,75 de incubación^{9,10}, es razonable pensar que los pichones de Psittaciformes deberían nacer al menos con una cantidad razonable de derivados glicogenados dentro de las células astrogliales. Para confirmar dichas resoluciones, en esta investigación se hallaron dos embriones de guacamayo con CGs razonablemente bien provistos de reservas glicogenadas.

La solubilidad del glicógeno depende de los lazos entre sus moléculas. En este estudio no se pudo resolver si la presencia de CGs vacíos/hipotróficos podía ser debida a la solubilidad de los derivados glicogenados, aunque se utilizaron las mismas técnicas en todos los casos, y en

11 aves se hallaron cantidades razonables de derivados glicogenados en el CG.

En el estudio se describe la presencia de pequeños vasos sanguíneos incluso en CGs vacíos/hipotróficos, siendo este un signo de actividad reciente en la estructura, así como de un reciente vaciado previo a la muerte. El vaciado de la estructura liberando glucosa no es posible debido a la carencia de glucosa-6-fosfatasa, aunque podría haberse dado por la vía glicogenolítica produciendo lactato, piruvato y cuerpos cetónicos (que pueden ser utilizados por el SNC)²⁶.

El estado del CG en esta investigación no parecía estar correlacionado con la edad del animal, su especie ni su origen. No se pudo establecer ninguna relación verdadera entre los CG normales y otros hallazgos histológicos, debido al bajo porcentaje de aves con un buen llenado de la estructura, y la carencia de controles. Por otro lado, la presencia de CG vacíos/hipotróficos se observó frecuentemente en aves que también tenían: atiroidismo/hipotiroidismo, uso inadecuado de las reservas lipídicas y vellosidades intestinales inmaduras.

La energía es central en el metabolismo, y depende directamente del buen funcionamiento de distintos órganos y sistemas, el tracto gastrointestinal, el sistema respiratorio y el circulatorio. El fallo de alguno de estos sistemas puede afectar directamente al metabolismo energético, y llevar al animal a entrar en un ciclo progresivo de deficiencia energética. También cualquier desorden que afecte al metabolismo energético puede ocasionar disfunciones y enfermedad en alguno de estos órganos/sistemas, como inmadurez o uso inapropiado de las reservas energéticas. Durante la incubación y el crecimiento, todas las vías energéticas y sistemas deben funcionar correctamente para permitir un crecimiento óptimo.

Teniendo en cuenta estos prerrequisitos en el estudio, se sugiere que una deficiencia subclínica de biotina en las hembras ponedoras, podría hacer que estas pusieran huevos con bajos niveles de biotina (sin llegar al estatus de huevos deficientes en biotina). Estos huevos con bajos niveles de biotina podrían desarrollarse de forma normal, sin presentar muertes embrionarias durante el primer período de incubación y deformaciones hasta que las reservas de biotina estuvieran vacías. Además, cuando los embriones empezaran a deglutir albumen, y junto con ello la avidina, esta reduciría aún más la disponibilidad de dicha vitamina para el embrión. La carencia de biotina, causaría una reducción de la gluconeogénesis y un descenso en la producción de glucosa, llevando al animal a un ciclo progresivo de deficiencia energética. Un embrión o un pichón con una deficiencia energética, no podría almacenar tanto glicógeno como debería en las células astrogliales del CG, y se vería forzado a empezar a usar las reservas para el período neonatal antes del nacimiento, causando un uso temprano del saco vitelino, un hígado graso no fisiológico, maduración retrasada de tejidos, retrasos en el crecimiento, muertes súbitas, etc. tal y como se ha observado en dicha investigación. Esta hipótesis no se ha probado experimentalmente y serían necesarias más investigaciones para clarificar la función real del CG.

Title

The Glycogen Body in Neonate Birds of the Order Psittaciformes and its Role in Neonate Mortality

Summary

The glycogen body (GB) is a specific avian structure in the lumbosacral region of the spinal cord. It is composed of astroglial cells specialized in storing glycogen-derivatives, but its function is still unknown. In the study, 110 neonate birds dead during the 2003 breeding season of different species of the order Psittaciformes were evaluated by necropsy, microbiology and complete histopathological study. The PAS stain was used for the evaluation of the GB. The clinical picture before death was mainly stunting of the chicks. Only 16% of the evaluated neonates presented a GB with the astroglial cells full of glycogen-derivatives; the rest presented deficiencies in different degrees, something never described before in the literature. Lesions of immaturity in other tissues were also seen. It was suggested that a possible subclinical biotin deficiency could have a role in the clinical picture described, the hypotrophic GBs and some of the histologic lesions of the study.

Key words: Glycogen body, neonates, psittacines, biotin.

Bibliografía

- Breazile JE, Kuenzel WJ: Systema nervosum centrale. En Baumel JJ et al. (ed): *Handbook of Avian Anatomy: Nomina Anatomica Avium*, Publications of Nuttall Ornithological Club, 1993; 493 – 554.
- Lyser KM: The fine structure of the glycogen body of the chicken. *Acta Anat* 1973; 85: 533 – 549.
- Watterson RL: Development of the glycogen body of the chick spinal cord. I. Normal morphogenesis, vasculogenesis and anatomical relationship. *J Morphol* 1949; 85: 337 – 389.
- Welsch U, Wächtler K: Zum Feinbau des Glykogenkörpers im Rückenmark der Taube. *Z Zellforsch* 1969; 97: 160 – 169.
- Möller W, Kummer W: The blood-brain barrier of the chick glycogen body (corpus gelatinosum) and its functional implications. *Cell Tissue Res* 2003; 313: 71 – 80.
- Lee K, Makino S, Imagawa T, Kim M, Uehara M: Effects of adrenergic agonists on glycogenolysis in primary cultures of glycogen body cells and telecephalon astrocytes of the chick. *Poult Sci* 2001; 80: 1736 – 1742.
- Dickson AD, Millen JW: The meningeal relationship of the glycogen body in the chick. *J Anat* 1957; 91: 47 – 51.
- Paul E: Neurohistologische und fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen über die Innervation des Glykogenkörpers der Vögel. *Z Zellforsch Mikrosk Anat* 1971; 112: 516 – 525.
- Matulino DH: Analysis of the developing avian glycogen body. *J Morph* 1972; 137: 463 – 482.
- De Gennaro LD, Benzo CA: Development of the glycogen body of the Japanese Quail, *Coturnix japonica*: I. Light microscopy of early development. *J Morph* 1987; 194: 209 – 217.
- Doyle WL, Watterson RL: The accumulation of glycogen in the "glycogen body" of the nerve cord of the developing chick. *J Morph* 1949; 85: 391 – 403.
- Benzo CA, De Gennaro LD: Glycogen synthetase and phosphorylase in developing chick glycogen. *J Exp Zool* 1974; 188: 375 – 380.
- Benzo CA, De Gennaro LD, Stearns SB: Glycogen metabolism in the developing chick glycogen body: Functional significance of the direct oxidative pathway. *Exp Zool* 1975; 193: 161 – 166.
- Hazelwood RL, Hazelwood DS, McNary WF: Possible hypophysial control over glycogenesis in the avian glycogen body. *Endocr* 1962; 71: 334 – 336.
- Graber G, Leveille GA, Netke SP: Effect of fasting on glycogen stability in the mature chicken. *Poult Sci* 1972; 51: 705.
- Houska J, Marvan F, Sova Z, Machálek E: Der Einfluss des Hungerns auf den Glykogengehalt des Glykogenkörpers und der Leber von Küken. *Zentralbl Veterinaermed Reihe* 1969; 16: 549 – 556.
- Imhof G: Anatomie und Entwicklungsgeschichte des Lumbalmarkes bei den Vögeln. *Arch Mikrosk Anat Entwicklungsgeschichte* 1905; 65: 498 – 610.
- Tuschy D: Stoffwechsel der Kohlenhydrate. En Mehner A, Hartfiel W (ed): *Handbuch der Geflügelphysiologie*, Vol 2, 1983; 721 – 726.
- Stryer L: Vía de las pentosas fosfato y gluconeogénesis. En Stryer L (ed): *Bioquímica*, Ed Reverté, 1995; 559 – 580.
- Klasing KC: Vitamins. En Klasing KC (ed): *Comparative Avian Nutrition*, Cab International, 2000; 309 – 311.
- Whitehead CC: Biotin intake and transfer to the egg and chick in broiler breeder hens on litter or in cages. *Brit Poult Sci*, 1984; 25: 287 – 292.
- Kolb E: Biotin. En Heider G, Monreal G (ed): *Krankheiten des Wirtschaftsgeflügels* Vol 2, Stuttgart, Gustav Fischer Verlag Jena, 1997; 528 – 532.
- Flammer K, Clubb SL: Neonatology. En Ritchie BW, Harrison GJ, Harrison LR (ed): *Avian Medicine: Principles and Application*, Florida, Wingers Publishing, 1994; 805.
- Clubb SL, Wolf S, Phillips A: Psittacine pediatric medicine. En Schubot RM, Clubb J, Clubb SL (ed): *Psittacine Aviculture. Perspectives, Techniques and Research*, Avicultural Breeding and Research Group, 1992; 16.1 – 16.27.
- Ricklefs RE, Starcks JM: Embryonic growth and development. En Ricklefs RE, Starcks JM (ed): *Avian Growth and Development*, New Cork, Oxford, Oxford University Press, 1998; 31 – 58.
- Benzo CA, De Gennaro LD: Glycogen metabolism in the developing accessory lobes of Lachi in the nerve cord of the chick: Metabolic correlations with the avian glycogen body. *J Exp Zool* 1981; 215: 47 – 52.